

**MORFOGENESIS BATANG BAWAH JERUK  
(*Citrus limonia* Osbeck) KULTIVAR *JAPANSCHÉ CITROEN*  
PADA KOMBINASI MEDIA TUMBUH MENGANDUNG  
METIONIN**

**SKRIPSI**



**OLEH:  
VIDA NOFRIANINDA  
H01214006**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN SAINS  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL**

**SURABAYA  
2018**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Vida Nofrianinda

NIM : H01214006

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2014

Menyatakan bahwa saya melakukan kerjasama penelitian dengan Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (BALITJESTRO) dengan judul: **Morfogenesis Batang Bawah Jeruk (*Citrus limonia* Osbeck) Kultivar *Japansche Citroen* pada Kombinasi Media Tumbuh Mengandung Metionin**, dengan pembimbing lapangan Bpk. Dr. Dita Agisimanto, S.P., M.P.

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Surabaya, 25 Juli 2018



**VIDA NOFRIANINDA**

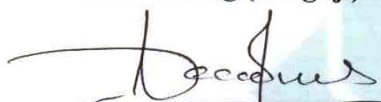
**MORFOGENESIS BATANG BAWAH JERUK**  
**(*Citrus limonia* Osbeck) KULTIVAR *JAPANSCHAE CITROEN***  
**PADA KOMBINASI MEDIA TUMBUH MENGANDUNG**  
**METIONIN**

Disusun oleh:  
Vida Nofrianinda  
H01214006


Telah dipertahakan di depan Dewan Penguji  
Pada tanggal 25 Juli 2018  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
Untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains (S.Si)

**Susunan Dewan Penguji**

Surabaya, <sup>01 Agustus</sup>.....2018  
Pembimbing (Penguji) I

  
Yuanita Rachmawati, M. Sc.  
NUP. 201603302

Surabaya, <sup>31 Juli</sup>.....2018  
Pembimbing (Penguji) II

  
Irul Hidayati, M.Kes.  
NIP. 198102282014032001

Surabaya, <sup>31 Juli</sup>.....2018  
Penguji III

  
Funsu Andiarna, M.Kes.  
NIP. 198710142014032002

Surabaya, <sup>27 Juli</sup>.....2018  
Penguji IV

  
Dr. Hj. Siti Nur Asiyah, M.Ag.  
NIP. 1972092711996032002

Mengetahui  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Ampel Surabaya

  
Dr. Eni Purwati, M.Ag.  
NIP. 196512211990022001

## PERSETUJUAN PEMBIMBING

Setelah memeriksa dan memberikan arahan terhadap skripsi yang ditulis oleh:

Nama : Vida Nofrianinda

NIM : H01214006

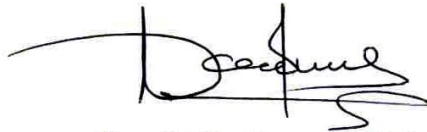
Program Studi : Biologi

yang berjudul: **MORFOGENESIS BATANG BAWAH JERUK (*Citrus limonia* Osbeck) KULTIVAR JAPANSCHÉ CITROEN PADA KOMBINASI MEDIA TUMBUH MENGANDUNG METIONIN**, Tim Pembimbing berpendapat bahwa skripsi tersebut dapat diajukan untuk disidangkan.

Surabaya, 19 Juli 2018

Pembimbing I

Pembimbing II



**Yuanita Rachmawati, M.Sc.**  
**NUP. 201603302**



**Irul Hidayati, M.kes.**  
**NIP. 198102282014032001**



**KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA  
PERPUSTAKAAN**

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax. 031-8413300  
E-Mail: [perpus@uinsby.ac.id](mailto:perpus@uinsby.ac.id)

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : VIDA NOFRIANINDA  
NIM : H01214006  
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI / BIOLOGI  
E-mail address : [nofrianinda@gmail.com](mailto:nofrianinda@gmail.com)

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

☒ Skripsi ☐ Tesis ☐ Desertasi ☐ Lain-lain (.....)  
yang berjudul :

MORFOGENESIS BATANG BAWAH JERUK (*Citrus limonia* Osbeck) KULTIVAR

*JAPANSCHÉ CITROEN* PADA KOMBINASI MEDIA TUMBUH MENGANDUNG

METIONIN

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara **fulltext** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 1 Agustus 2018

Penulis

(VIDA NOFRIANINDA)



## ABSTRAK

Kata kunci: Kultur jaringan, *Japanesche Citroen*, Metionin

## ABSTRACT

**Keyword:** Tissue culture, *Japanesche Citroen*, Methionine

## DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN .....	i
PERSETUJUAN PEMBIMBING .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI .....	iv
ABSTRAK .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumuan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Batasan Penelitian .....	5
E. Manfaat Penelitian .....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Jeruk <i>Japansche Citroen</i> (JC).....	6
B. Morfogenesis tanaman .....	9
C. Kultur Jaringan Tanaman .....	10
1. Definisi Kultur Jaringan .....	10
2. Tahapan-tahapan Kultur Jaringan .....	14
3. Jenis Media Kultur Jaringan .....	15
4. Komponen Dasar Medium Kultur Jaringan .....	17
5. Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Tanaman Kultur ...	28
D. Asam Amino .....	29
1. Definisi Asam Amino .....	29
2. Asam Amino Metionin .....	31
BAB III KERANGKA TEORI DAN HIPOTESIS .....	33
A. Kerangka Teori .....	33
B. Hipotesis .....	33
BAB IV METODE PENELITIAN .....	34
A. Rancangan Penelitian .....	34
B. Waktu dan Lokasi Penelitian .....	35
C. Bahan dan Alat Penelitian .....	35
D. Prosedur Penelitian .....	36
E. Prosedur Operasional .....	41
F. Analisis Data .....	43













benih batang bawah jeruk yang unggul dan bermutu tinggi sangat penting dalam budidaya jeruk dikarenakan adanya pengaruh yang besar dari batang bawah terhadap keberhasilan budidaya jeruk. Saat ini benih jeruk JC diperjual belikan secara bebas tanpa melalui sertifikasi benih sehingga tidak terdapat jaminan mutu benih (Andrini, 2013).

Untuk meningkatkan ketersediaan benih dengan kualitas tinggi, produksi dapat dilakukan menggunakan teknologi kultur jaringan. Kultur jaringan tanaman merupakan suatu teknik pengisolasian dan pemeliharaan sel, jaringan atau potongan organ tanaman yang dipindahkan dari lingkungan alamnya kemudian ditumbuhkan pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan yang terkendali dan bebas mikroorganisme (Santoso dan Nursandi, 2003). Bagian-bagian tersebut kemudian memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali.

Kultur jaringan tanaman membutuhkan lingkungan yang sesuai agar tanaman dapat tumbuh dan berkembang. Oleh karena itu media yang dipilih harus mempertimbangkan segala sesuatu yang dibutuhkan oleh tanaman, salah satunya yaitu pemberian nutrisi dalam jumlah dan perbandingan yang benar pada medium kultur.

Komposisi media kultur jaringan umumnya meliputi unsur makro nutrien, mikro nutrien, zat pengatur tumbuh, dan asam amino. Asam amino merupakan penyusun protein yang memiliki berbagai fungsi pada tumbuhan diantaranya sebagai pendukung, mengangkut substansi lain, pengkoordinasi aktivitas organisme, perespon sel terhadap rangsangan, pergerakan, perlindungan





Berdasarkan latar belakang tersebut, penambahan asam amino pada tanaman menjadi penting sebagai pengatur proses seluler dalam tanaman, seperti pembelahan sel, sintesis dinding sel, serta diferensiasi dan proliferasi sel. Oleh karena itu dilakukan percobaan mengenai morfogenesis batang bawah jeruk (*Citrus limonia* Osbeck) kultivar *Japansche Citroen* pada media kultur yang mengandung metionin.

1. Bagaimana pengaruh perlakuan beberapa konsentrasi metionin terhadap morfogenesis JC?
2. Berapakah konsentrasi metionin yang optimum untuk morfogenesis JC?

1. Mengetahui pengaruh perlakuan beberapa konsentrasi asam amino metionin terhadap morfogenesis JC
2. Mengetahui konsentrasi metionin yang optimum untuk morfogenesis JC

Diberikan perlakuan metionin dengan konsentrasi 0 ppm, 25 ppm, 75 ppm dan 100 ppm. Parameter morfogenesis yang diamati yaitu tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah tunas, jumlah akar, bobot tanaman, dan waktu tumbuh tunas.

Apabila telah diketahui konsentrasi optimum metionin dalam memacu morfogenesis, maka implementasinya yaitu:

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

### A. Jeruk *Japansche Citroen* (JC)

Menurut Swingle dan Reece (1967) *Japansche Citroen* (JC) sebenarnya adalah *Rangpur Lime* atau *Canton Lemon* berasal dari India, di Jepang disebut *Hime Lemon* dan di Brazil disebut *Cravo Lemon*. Klasifikasi jeruk JC disesuaikan dengan klasifikasi USDA (2013):

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Sapindales

Famili : Rutaceae

Sub family : Aurantioideae

Genus : *Citrus*

Species : *Citrus limonia* Osbeck

Kultivar : *Japansche Citroen*

Jeruk JC merupakan varietas hibrid yang dihasilkan dari persilangan antara *Citroes nobilis* (keprok) X *Citroes medica* (lemon). Karakteristik JC mirip dengan *Rough lemon*, tahan terhadap kekeringan, dapat merangsang pembentukan buah lebih awal dari biasanya dan menghasilkan produksi tinggi dengan kualitas yang baik. Jenis ini peka terhadap *Exocortis* (Sugiyarto, 1994).

Jeruk JC merupakan batang bawah jeruk yang banyak digunakan petani Indonesia karena daya adaptasinya luas dan mempunyai ketahanan terhadap beberapa penyakit. Benih jeruk JC harus bermutu baik fisik, fisiologis, genetik, dan kesehatan. Mutu benih maksimal saat mencapai masak fisiologis. Pendugaan tingkat kemasakan benih dapat dilakukan berdasarkan tingkat kemasakan buah jeruk JC yang umumnya terlihat dari perubahan warna kulit buah (Andrini, 2013).

Menurut Purbiati *et al.* (2002) JC memiliki kevigoran yang tinggi, ukuran biji sedang (diameter 0,5 cm), mudah beradaptasi tetapi buahnya sangat masam dan kurang layak untuk dikonsumsi, oleh karenanya direkomendasikan sebagai batang bawah. Batang bawah JC memiliki tingkat kompatibilitas yang baik. Hasil penelitian Susanto (2003) menunjukkan penggunaan batang bawah JC bersifat lebih mendorong pertumbuhan vegetatif batang atas dibandingkan *Rangpur Lime* dan *Rough Lemon*. Sedangkan hasil penelitian Rahayuni dan Hadijah (1996) menunjukkan tanaman yang berbatang bawah JC tumbuh lebih vigor sehingga berukuran lebih besar dibandingkan dengan batang bawah *Rough Lemon*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus amblycarpa* dan *Citroen nobilis*.

Menurut Dhita (2011), jeruk JC mempunyai ciri-ciri sebagai berikut:

- [illegible]

- ... batang atas baik dan ce  
... gga baik  
... *is*, *Xyloporosis* dan *Phyto*  
... *is* dan agak tahan terhad

Hortikultura Malang), jeruk JC telah ditanam di kebun Cukurgondang Pasuruan pada tahun 1924 yang dibawa oleh orang Belanda. Selanjutnya tahun 1936 tanaman ini berkembang dan menyebar ke wilayah-wilayah sentra produksi jeruk di Indonesia, termasuk di pulau Bali. Sebagai batang bawah (*Rootstock*), jeruk JC memiliki sifat tahan kekeringan, tidak mudah mati saat dicabut untuk dipindahkan dan cocok (*compatible*) bila ditempel (okulasi) dengan beberapa macam varietas jeruk serta mampu menghasilkan buah cukup tinggi walaupun kadang rasa asamnya masih terbawa. Jeruk JC bila dalam





Perkembangan adalah penjumlahan seluruh perubahan secara progresif merincikan tubuh organisme. Zigot tumbuhan adalah sebuah sel tunggal yang tidak memiliki kemiripan apapun dengan organisme yang akan dibentuknya nanti. Tiga proses perkembangan yang saling tumpang tindih merubah sel telur yang dibuahi itu menjadi sebuah tumbuhan: pertumbuhan, morfogenesis, dan diferensiasi seluler.

Jika perkembangan hanya sekedar masalah pertumbuhan, maka zigot akan menjadi sebuah bola sel yang mengembang. Pada kenyataannya, pertumbuhan disertai dengan morfogenesis, yaitu perkembangan bentuk. Dalam proses ini dihasilkan sel-sel, jaringan-jaringan, dan organ-organ, yang memberi struktur dan bentuk organisme dewasa. Embrio yang terbungkus dalam biji memiliki kotiledon dan akar, serta tunas rudimenter, yaitu produk mekanisme morfogenetik yang mulai beroperasi dengan pembelahan pertama zigot. Setelah benih berkecambah, morfogenesis terus membentuk sistem akar dan tunas tumbuhan yang sedang tumbuh. Sebagai contoh, morfogenesis pada ujung tunas akan memantapkan bentuk daun dan sifat morfologis lainnya.

## 1. Definisi Kultur Jaringan

[illegible]

seksual dan perbanyakan aseksual. Pada perbanyakan melalui siklus secara aseksual, perbanyakan vegetatif masih mampu mempertahankan karakteristik unik dari individu tanaman (tanaman induk). Perbanyakan secara vegetatif melalui kultur jaringan sudah sangat berkembang di belahan bumi, dan menjadi pemilihan perbanyakan tanaman yang lebih komersial (Wattimena, 1992).

Kultur jaringan tanaman adalah salah satu pendekatan budidaya pertanian yang sudah berpijak pada konsep *how to create* yang melengkapi serta memungkinkan peningkatan efektivitas dan produktivitas bertanam tradisional (Santoso dan Nursandi, 2003). Kultur jaringan tanaman terdiri dari sejumlah teknik untuk menumbuhkan organ, jaringan dan sel tanaman. Jaringan dapat dikulturkan pada agar padat atau dalam medium hara cair (Wetter and Constabel, 1991). Kultur jaringan juga merupakan teknik perbanyakan tanaman dengan memperbanyak jaringan mikro tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* menjadi tanaman yang sempurna dalam jumlah yang sangat banyak (Semendaya, 2014).

Sel-sel, jaringan atau organ tanaman yang ditanam secara *in vitro* (diluar lingkungan tumbuhnya) dengan menggunakan bahan hara sintetis, ternyata dapat beregenerasi menjadi tunas dan akar yang selanjutnya berkembang menjadi tanaman normal yang mampu hidup mandiri (Wetter and Constabel, 1991). Kultur *in vitro* pada tanaman jeruk dapat dilakukan dengan cara kultur ovul, kultur nuselar (Carimi, 2002), kultur tunas pucuk (Starrantino dan Caruso, 1983), dan kultur internode batang yang berasal

dari perkecambahan *in vitro* maupun dari tanaman dewasa (Harada dan Murai, 1996). Teknik ini berguna untuk industri pembibitan jeruk dalam skala besar terutama untuk varietas-varietas tertentu yang ketersediaan bijinya sangat terbatas atau bergantung musim.

Pada prinsipnya metode kultur jaringan merupakan cara untuk memperbanyak protoplas atau sel atau organ dalam media tumbuh aseptik (mengandung formulasi hara buatan) dengan lingkungan yang terkendali. Lestari (2008) menyatakan bahwa prinsip yang mendasari penggunaan metode kultur jaringan adalah pembuktian teori totipotensi sel.

Totipotensi sel adalah kemampuan sel untuk tumbuh dan berkembang menjadi individu yang sempurna jika ditempatkan dalam lingkungan yang sesuai dan terkendali (Lestari, 2008). Arah pertumbuhan dan perkembangan suatu sel sangat dipengaruhi oleh lingkungan tumbuhnya, zat pengatur tumbuh yang ditambahkan, serta dipengaruhi oleh media tumbuhnya. Ketepatan pemilihan dan penggunaan media kultur sangat menentukan keberhasilan penggunaan teknik kultur jaringan.

Menurut Wetherell (1982), didalam masing-masing sel tumbuhan mengandung informasi genetik dan sarana fisiologis tertentu yang mampu membentuk tanaman lengkap bila ditempatkan pada lingkungan yang sesuai. Kemampuan inilah yang kemudian dikenal sebagai totipotensi. Sel tumbuhan bersifat totipoten artinya sel bukan embrionik memiliki kemampuan untuk berdeferensiasi menjadi sel embrionik, kemudian







dilakukan *rooting* (tahap III) dengan mengeluarkan eksplan dari dalam botol kultur dan ditanam pada media arang sekam steril. Setelah 2 bulan, tanaman siap untuk di aklimatisasi (tahap IV) dalam polybag yang berisi tanah.

Tahap inisiasi, multiplikasi, *rooting* dan aklimatisasi tidak akan berhasil jika tidak ada media tanam yang digunakan, oleh karena itu perlu dilakukan proses pembuatan media sebelumnya. Dalam tahap inisiasi, eksplan yang digunakan tidak hanya berasal dari tunas tanaman namun bisa juga berasal dari benih, sehingga perlu dilakukan ekstraksi benih sebelum proses inisiasi.

### 3. Jenis Media Kultur Jaringan

Komposisi media yang digunakan tergantung jenis eksplan, umumnya terdiri dari garam mineral, vitamin, dan hormon, serta diperlukan bahan tambahan seperti agar, gula, dan lain-lain (Gunawan, 1992).

Dalam surat Al-Waqi'ah ayat 62-64 Allah SWT berfirman:

وَلَقَدْ عَلَّمْتُمُ النَّشْأَةَ الْأُولَىٰ فَلَوْلَا تَذَكَّرُونَ ﴿٦٢﴾ أَفَرَأَيْتُمْ مَا تَحْرُثُونَ ﴿٦٣﴾ أَنْتُمْ تَزْرَعُونَهُ أَمْ نَحْنُ الزَّارِعُونَ ﴿٦٤﴾

(62) Dan Sesungguhnya kamu telah mengetahui penciptaan yang pertama, Maka mengapakah kamu tidak mengambil pelajaran (untuk penciptaan yang kedua)? (63) Maka Terangkanlah kepadaku tentang yang kamu tanam (64) Kamukah yang menumbuhkannya atau kamikah yang menumbuhkannya?

Abu Fida' bin Umar bin Katsir al-Dimasyqi (2006) menjelaskan dalam tafsir ibnu katsir bahwa Allah SWT menciptakan yang terdahulu apa yang ada di bumi termasuk penciptaan tumbuh-tumbuhan. Sehingga kita dapat mengambil pelajaran dan mengetahui bahwa Dzat yang mampu atas penciptaan yang pertama tentunya Dia juga mampu untuk penciptaan yang

lainnya. Sehingga kita dapat mempelajari dan mengaplikasikannya pada penciptaan yang kedua seperti teknik kultur jaringan, karena didalamnya kita dapat mengkaji penciptaan Allah yang menumbuhkan tumbuhan di atas media kultur dengan segala unsur zat-zat hara yang ada didalamnya. Dimana media kultur mengandung unsur-unsur esensial seperti ZPT, vitamin, zat hara makro dan mikro, sehingga tanaman dapat tumbuh dan berkembang dengan baik.

Media tanam dalam kultur jaringan terdiri dari tiga jenis yaitu, media cair, media padat, dan media semi padat. Beberapa media dasar yang digunakan dalam kultur jaringan antara lain:

- a. Media dasar Murashige dan Skoog merupakan media yang umum digunakan pada hampir semua jenis tanaman
- b. Media dasar G5 (Gamborg), banyak digunakan untuk kultur suspensi sel tanaman leguminosae dan kedelai
- c. Media dasar White untuk kultur akar tanaman tomat
- d. Media dasar Lloyd & McCown (Lm) / Woody Plant Medium (WPM) khusus untuk kultur jaringan tanaman berkayu
- e. Media dasar Vacin dan Went digunakan untuk kultur jaringan anggrek.  
Kalium nitrat berfungsi sebagai sumber nitrat
- f. Media dasar Knudson Modified untuk kultur jaringan tanaman anggrek
- g. Media dasar Mitra Orchid Medium merupakan media khusus untuk kultur anggrek

- h. Media dasar Nitsch dan Nitsch digunakan dalam kultur tepung sari (pollen) dan kultur sel
- i. Media dasar Schenk dan Hildebrandt untuk kultur jaringan tanaman monokotil
- j. Medium Kao dan Michayluk digunakan untuk kultur protoplas Cruciferae, Gramineae dan Leguminosae

Dari sekian banyak media dasar untuk kultur jaringan, yang paling banyak dan sering digunakan adalah media Murashige dan Skoog. MS merupakan singkatan dari nama penemunya, Murashige dan Skoog atau LS singkatan dari Linsmaier dan Skoog merupakan medium yang sangat banyak digunakan pada hampir semua jenis tanaman baik untuk regenerasi maupun perkembangan planlet (Reinert and Bajaj, 1989).

Keistimewaan media MS yaitu kaya akan kandungan nitrat, kalium, dan amonium, serta jumlah hara anorganiknya yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak sel tanaman sehingga baik untuk pendewasaan embrio somatik pada tanaman jeruk keprok Batu 55 (Merigo, 2011). Karyanti et al. (2012) juga menyatakan bahwa pendewasaan embrio somatik jeruk keprok Garut hasil induksi mutasi sinar Gamma berhasil menggunakan media MS.

#### 4. Komponen Dasar Medium Kultur Jaringan

Komponen dasar dari medium kultur dapat bermacam-macam. secara umum medium kultur jaringan harus mengandung unsur-unsur sebagai berikut:



c) Fosfor (P)

d) Kalium (K)

e) Sulfur (S)

[illegible]





Berperan dalam translokasi karbohidrat, juga terlibat dalam diferensiasi seluler dan perkembangan. Ikatan boron organik memungkinkan adanya diferensiasi dan penyusunan struktur halus dari dinding sel sehingga memudahkan transport karbohidrat dan penyerapan ion ke dalam sel, sebagai aktivator dan inaktivator bagi zat pengatur tumbuh.

### c) Molibdenum (Mo)

Manganese merupakan elemen esensial yang terdapat pada membran kloroplas, berperan sebagai aktifator enzim dengan bertindak sebagai perantara pada proses fosforilasi, bahan pembentuk klorofil dan aktif dalam fotosintesa, metabolisme protein dan pembentukan vitamin C. Pada medium kultur jaringan diberikan dalam bentuk  $\text{MnSO}_4$ .

membran kloroplas, berperan sebagai aktifator enzim dengan bertindak sebagai perantara pada proses fosforilasi, bahan pembentuk klorofil dan aktif dalam fotosintesa, metabolisme protein dan pembentukan vitamin C. Pada medium kultur jaringan diberikan dalam bentuk  $\text{MnSO}_4$ .



1) Gula

Sukrosa pada medium kultur ditambahkan sebanyak 30 gr/L. Glukosa atau D-glukosa biasanya ditambahkan dengan konsentrasi 20-30 gr/L, tergantung dari jenis eksplan. Pada kultur mikrospora beberapa spesies tanaman digunakan maltosa, maltosa dihidrolisis lebih lambat dibandingkan dengan sukrosa, ini memberi pengaruh

Myo-inositol ditambahkan pada medium untuk membantu diferensiasi dan pertumbuhan jaringan. Myo-inositol ikut serta dalam beberapa reaksi metabolik penting yang berhubungan dengan pembelahan sel. Myo-inositol merupakan perantara pada perubahan glukosa menjadi asam galakturonat juga sebagai prazat untuk pektin dan penyusun dinding sel.

### 3) Vitamin

Tiamin merupakan bagian prostetik yang terdapat di dalam sel, berperan sebagai koenzim dalam reaksi yang menghasilkan energi

4) Asam-asam amino

### 5) Zat pengatur tumbuh (ZPT)

### c. Bahan pematik

[illegible]

Keuntungan dari penggunaan agar-agar adalah:

- Bahan pematat selain agar-agar yaitu Gerlit. Gerlit adalah suatu hetero-polisakarida yang dihasilkan bakteri *Pseudomonas elodea*, terdiri dari molekul-molekul K-glukuronat, rhamnosa, dan selobiosa. Beberapa sifat menguntungkan dari penggunaan gerlite yaitu:

- Untuk mencapai kekerasan gel tertentu, pemakaian gerlit umumnya yaitu 2 gr/L media. Namun kekerasan gerlit sangat dipengaruhi oleh adanya garam-garam seperti NaCl, KCl,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{CaCl}_2$ . NaCl dan KCl dapat menurunkan kekerasan gel, tetapi  $\text{MgCl}_2$  dan  $\text{CaCl}_2$  meningkatkan kekerasan gel (Gunawan, 1992).

#### d. pH (*Potential of Hydrogen*)

Menurut Gambong dan Shyluk (1981), sel-sel tanaman membutuhkan pH yang sedikit asam berkisar antara 5.5–5.8. Pengaturan pH biasa dilakukan dengan menggunakan NaOH (atau kadang-kadang KOH) atau HCL pada waktu semua komponen sudah dicampurkan.



Ada empat faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur *in vitro*, yaitu eksplan yang digunakan, genotipe, media kultur dan zat pengatur tumbuh (George dan Sherrington, 1984).

a. Eksplan

Menurut Yusnita (2003), penggunaan eksplan yang bersifat meristematik umumnya memberikan keberhasilan pembentukan embrio somatik yang lebih tinggi. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah biji atau bagian-bagian biji seperti aksis embrio atau kotiledon, tunas pucuk, potongan batang satu buku (nodal eksplan), potongan akar, potongan daun, potongan umbi batang, umbi akar, empulur batang, umbi lapis dengan dan bagian batang, dan bagian bunga. Umur fisiologi, umur ontogenik, ukuran eksplan, serta bagian tanaman yang diambil merupakan hal yang harus dipertimbangkan dalam memilih eksplan yang akan digunakan sebagai bahan awal kultur.

b. Genotip

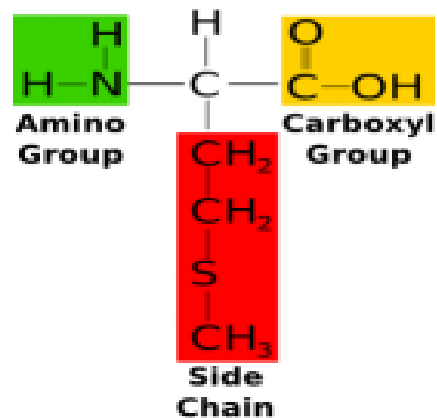
Menurut Wattimena *et al.* (1992), genotip merupakan salah satu faktor yang lebih dominan dalam mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis tanaman dalam kultur jaringan. Media dan kondisi fisik lingkungan tumbuh kultur seringkali berbeda antara satu genus dengan yang lain, atau spesies tanaman tertentu dengan spesies yang lain. Bahkan antar varietas yang memiliki sifat dekat membutuhkan lingkungan dan media yang berbeda.





Metionin adalah asam amino yang memiliki unsur S. Metionin mengandung unsur sulfur (belerang) sehingga dapat menstimulasi tanaman menghasilkan etilen yang akan membuat tanaman lebih cepat masuk pada fase pertumbuhan generatif, yang otomatis membuat pertumbuhan vegetatif menjadi berhenti, sehingga makin tinggi kadar metionin yang diberikan akan mempercepat tanaman itu masuk pada fase generatif yang membuat pertumbuhan vegetatif tidak optimal (Rumondor, 2013).

[illegible]



Gambar 2.5. Struktur kimia metionin (Sridianti, 2013).

Sel tanaman dalam pertumbuhannya memerlukan unsur-unsur seperti karbon (C), nitrogen (N), hidrogen (H), oksigen (O), dan belerang (S), yang mana unsur-unsur tersebut juga merupakan penyusun metionin (Rumondor, 2013). Penambahan metionin sebagai prekursor pada media kultur meskipun dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder, tapi dapat pula mengakibatkan pertumbuhan selnya rendah (Pandiangan dan Tilaar, 2007). Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rumondor (2013) yaitu jumlah tunas yang tertinggi dicapai pada kombinasi perlakuan tanpa metionin dan ekstrak benih brokoli 2 g/L, sedangkan yang terendah terdapat pada kombinasi perlakuan metionin 20 ppm dan tanpa ekstrak benih brokoli.



## BAB IV

### METODE PENELITIAN

### A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu *Experimental Laboratory*, dengan variabel sebagai berikut:

1. Variabel bebas : konsentrasi metionin (0, 25, 75, 100 ppm)
2. Variabel terikat : Jumlah daun, jumlah tunas, waktu tumbuh tunas, jumlah akar, tinggi tanaman, serta bobot tanaman
3. Variabel kontrol: Eksplan yang digunakan yaitu spesies *Citrus limonia* Osbeck kultivar *Japansche Citroen* (JC) setinggi  $\pm 1$ -2 cm tanpa ujung tunas, komposisi media, pH media (5.6 – 5.8), dan suhu ruang inkubasi ( $\pm 20^{\circ}\text{C}$ ).

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan 4 konsentrasi metionin dan 5 kali ulangan, sehingga diperoleh 20 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdapat 5 eksplan, sehingga total keseluruhan sebanyak 100 eksplan

Tabel 4.1 Beberapa konsentrasi dan pengulangan perlakuan

Konsentrasi	Pengulangan				
	1	2	3	4	5
0 ppm	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan
25 ppm	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan
50 ppm	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan
75 ppm	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan	5 eksplan





## 2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kultur + tutupnya, erlenmeyer, gelas ukur, pipet tetes, pipet mikro, gelas beker, neraca analitik, pH meter, spatula, autoclave, *Laminar Air Flow* (LAF), *magnetic stirrer*, lemari pendingin, kompor, panci, pengaduk, *sprayer*, scalpel, pinset, bunsen, *cutter*, bak besar dan kamera.

## D. Prosedur Penelitian

### 1. Persiapan Botol kultur

- Disiapkan beberapa botol kultur + tutupnya
- Dimasukkan ke dalam bak besar kemudian ditambahkan klorok 10 ml/L beserta air bersih secukupnya
- Didiamkan hingga  $\pm 48$  jam agar botol + tutup benar-benar steril
- Dicuci bersih menggunakan sabun kemudian bilas dengan air mengalir
- Dikeringkan dalam oven hingga siap untuk digunakan.

## 2. Pembuatan Media

- a. Pembuatan media MS0
  - 1) Disiapkan gelas beker berukuran 1 liter, masukan stok Nitrat, Sulfat, Halida, Fosfat, Ferum masing-masing 10 ml/L, distirrer hingga homogen
  - 2) Ditambahkan vitamin 2 ml/L, myo inositol 0.25 gr/L, Sukrosa 30gr/L dan Malt Ekstrak Powder 0.5 gr/L, distirrer hingga homogen

- 3) Ditambahkan akuades hingga 200ml kemudian dituang ke dalam panci dan dipanaskan hingga mendidih untuk menstabilkan pH
  - 4) Dituang ke dalam labu ukur/ gelas ukur 1000ml kemudian ditambahkan akuades hingga 1 liter
  - 5) Dituang kembali ke dalam gelas beker, diletakkan diatas magnetic stirrer dan diukur pHnya dalam rentang 5.6-5.8
  - 6) Dituang ke dalam panci, tambahkan serbuk agar 10gr/L, panaskan dengan diaduk-aduk perlahan hingga mendidih
  - 7) Dituang ke dalam 40 botol, masing-masing 25 ml/botol kemudian tutup rapat dan sterilisasi kedalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C dengan tekanan 1,5 atm
  - 8) Disimpan ke dalam ruangan steril.
- b. Pembuatan stok metionin 2000 ppm dari 100 ml akuades
- 1) Dimasukkan serbuk metionin sebanyak 0,2 gram ke dalam labu ukur, ditambahkan akuades steril hingga 100 ml, kocok perlahan
  - 2) Dituang ke dalam gelas beker 100 ml, distirrer hingga homogen
  - 3) Dituang ke dalam erlenmeyer 100 ml, ditutup dengan alumunium foil, diberi label kemudian disimpan di dalam lemari pendingin
- c. Pembuatan media perlakuan
- 1) Disiapkan 5 gelas beker berukuran 250 ml, beri label 0 ppm, 25 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm
  - 2) Dimasukan stok Nitrat, Sulfat, Halida, Fosfat, Ferum masing-masing 2.5 ml, distirrer hingga homogen

a. Sterilisasi ruang kerja

- [illegible]



Parameter pengamatan yang diamati yaitu:

- [illegible]











*Metionin* dilakukan mulai tanggal 15 februari hingga 15 Juni 2023 di Laboratorium Kultur Jaringan Balitjestro.

**pada Eksplan**

adalah bagian dari tanaman yang digunakan sebagai bahan penelitian. Eksplan merupakan salah satu hal yang dapat mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Dalam teknik kultur jaringan, semua bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan. Pada penelitian ini eksplan yang digunakan adalah potongan batang dari *Japansche Citroen* (JC) yang memiliki beberapa nodal dan daun.

Langkah awal yang dilakukan yaitu memindahkan bahan eksplan dari

### A. Perlakuan pada Eksplan

Langkah awal yang dilakukan yaitu memindahkan bahan eksplan dari media yang mengandung zat pengatur tumbuh (ZPT) ke dalam media Murashige Skoog (MS) tanpa ZPT selama  $\pm 14$  hari setelah tanam. Hal tersebut dimaksudkan agar keadaan metabolisme eksplan kembali netral sebelum digunakan sebagai bahan percobaan. Setelah itu eksplan dipotong bagian *shoottip*, tunas aksilar dan akarnya (jika ada), serta dipotong dengan tinggi 1-2 cm dengan tujuan untuk menyeragamkan eksplan sebagai bahan percobaan.



Allah SWT berfirman dalam surah Thoha ayat 53 yang berbunyi:

Artinya: yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.

Dalam tafsir Al-Muyassar dijelaskan bahwa hanya Allah semata yang telah menjadikan bumi terbentang dan terhampar agar dapat dimanfaatkan dan didiami. Allah SWT menjadikan jalan yang mudah untuk dilalui makhluk-makhluk di muka bumi. Dia juga menurunkan hujan dari langit yang dapat menumbuhkan beragam tumbuhan sebagai rezeki manusia dan hewan (Al-Qarni, 2007).

Respon perlakuan berbagai variasi konsentrasi metionin terhadap tinggi eksplan dapat dilihat pada tabel 5.1.

Konsentrasi	0 mst	2mst	4mst	6 mst	8 mst	10 mst	12 mst
0 ppm	1.468	1.552	1.552	1.568	1.596	1.644	1.668
25 ppm	1.084	1.128	1.160	1.284	1.304	1.346	1.354
75 ppm	1.428	1.563	1.637	1.675	1.690	1.712	1.742
100 ppm	1.164	1.248	1.332	1.357	1.333	1.355	1.355

[illegible]







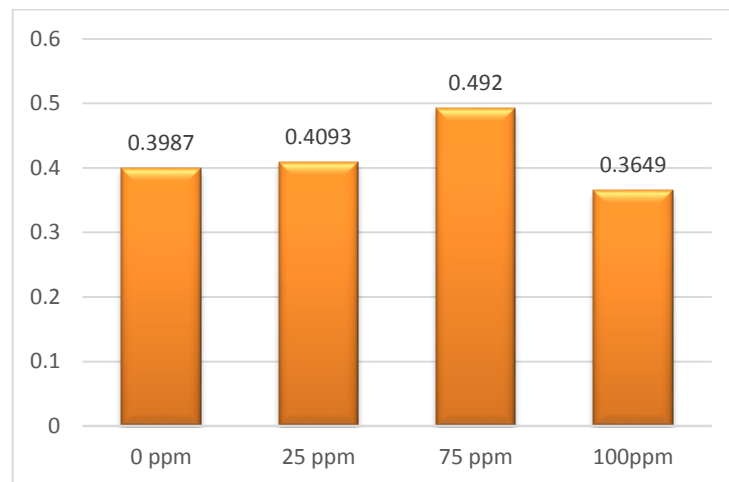




Gambar 5.4. Pola pertumbuhan daun JC

Metionin adalah asam amino yang mengandung unsur S. Pada umumnya S yang dibutuhkan untuk pertumbuhan optimal tanaman bervariasi antara 0,1 sampai 0,5% dari bobot kering tanaman (Marschner, 1995). Tanaman mengambil S berhubungan erat dengan serapan P dan serapan N. Serapan S oleh sebagian besar tanaman berkisar antara 10 sampai dengan 15% dari





Gambar 5.5. Rerata jumlah tunas eksplan JC dengan perlakuan metionin pada konsentrasi 0 ppm, 25 ppm, 75 ppm dan 100 ppm.

Seperti hal nya tinggi tanaman dan jumlah daun, Konsentrasi 75 ppm juga memberikan pengaruh yang paling optimal terhadap jumlah tunas eksplan dikarenakan metionin merupakan asam amino yang menjadi prekursor terbentuknya S-adenosil metionin yang merupakan anggota kelompok metil dan memiliki fungsi sangat penting dalam biosintesis tanaman seperti sintesis dinding sel, menghasilkan metabolit sekunder, sintesis klorofil dan replikasi DNA. Namun pemberian metionin dalam konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menghambat pertumbuhan tunas eksplan karena S-adenosil metionin juga berfungsi sebagai prekursor hormon etilen (Amir, 2008), sehingga dapat mempercepat eksplan masuk pada fase pertumbuhan generatif yang menjadikan pertumbuhan vegetatif terhambat.

#### E. Jumlah Akar Eksplan JC dengan Perlakuan Metionin

Respon perlakuan berbagai variasi konsentrasi metionin terhadap jumlah akar eksplan JC dapat dilihat pada tabel 5.7

Tabel 5.7. Data jumlah akar eksplan JC

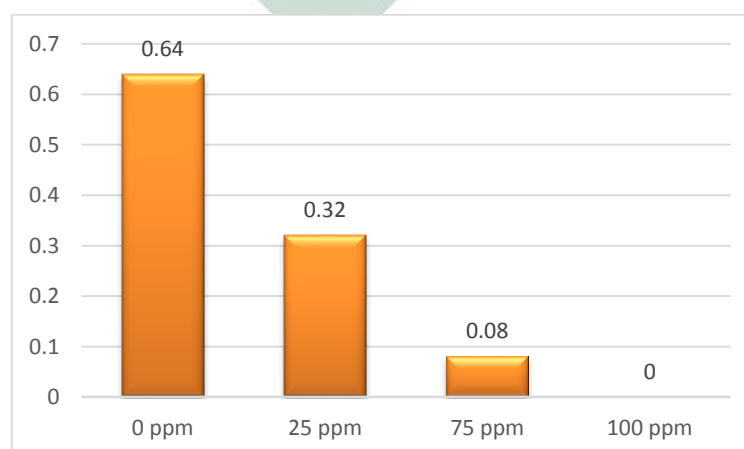
Konsentrasi	0 mst	2mst	4mst	6 mst	8 mst	10 mst	12 mst
0 ppm	0.00	0.00	0.12	0.12	0.48	0.64	0.64
25 ppm	0.00	0.00	0.00	0.24	0.28	0.28	0.32
75 ppm	0.00	0.04	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
100 ppm	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Pada tabel tersebut, akar mulai tumbuh 2 minggu setelah tanam pada konsentrasi 75 ppm. Kemudian diikuti konsentrasi 0 ppm dan 25 ppm pada 4 dan 6 minggu setelah tanam. Pada minggu terakhir pengamatan (12 mst) didapatkan jumlah akar tertinggi pada konsentrasi 0 ppm sebanyak 0.64.

Tabel 5.8. Hasil analisis Kruskal Wallis pada jumlah akar

Method	DF	H-Value	P-Value
Not adjusted for ties	4	4.71	0.319
Adjusted for ties	4	15.70	0.003

Berdasarkan analisis Kruskal Wallis menunjukkan nilai *P-value not adjusted for ties* sebesar 0.319 ( $> 0.05$ ) sehingga menunjukkan bahwa perlakuan metionin memberikan pengaruh namun tidak berbeda nyata terhadap jumlah tunas. Perbedaan jumlah akar dengan variasi konsentrasi metionin secara lebih jelas dapat dilihat pada gambar 5.6



Gambar 5.6. Grafik jumlah akar eksplan JC pada masing-masing konsentrasi mulai 0 mst hingga 12 mst.

Akar pertamakali muncul pada konsentrasi 75 ppm namun pada minggu terakhir didapatkan jumlah akar tertinggi pada konsentrasi 100 ppm. Pertumbuhan akar seringkali terhambat karena adanya gejala pencoklatan (*browning*) pada sebagian tanaman di bagian dasar eksplan. Wattimena (1992) menyatakan bahwa jika tanaman dilukai sering terjadi penimbunan senyawa-



senyawa fenolik disekitar luka, seakan-akan menutup daerah luka tersebut. Santoso dan Nursandi (2003) menyebutkan pencoklatan adalah suatu karakter munculnya warna coklat atau hitam yang sering membuat tidak terjadinya pertumbuhan dan perkembangan eksplan, terutama pertumbuhan akar. Peristiwa pencoklatan sesungguhnya merupakan peristiwa alamiah biasa yang terjadi pada sistem biologi, suatu perubahan adaptif bagian tanaman akibat pengaruh fisik atau biokimia (memar, pengupasan, pemotongan, serangan penyakit atau kondisi lain yang tidak normal).

#### F. Bobot Eksplan JC dengan Perlakuan Metionin

Respon perlakuan berbagai variasi konsentrasi metionin terhadap bobot eksplan JC dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.9. Data bobot eksplan JC

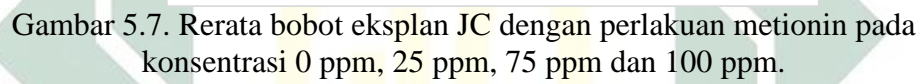
Konsentrasi	Bobot (mg)
0 ppm	0.0212
25 ppm	0.0213
75 ppm	0.0179
100 ppm	0.0231

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa bobot tertinggi diperoleh pada konsentrasi 100 ppm sebesar 0.0231 mg, kemudian 25 ppm, 75 ppm dan terendah pada konsentrasi 75 ppm sebesar 0.0179.

Tabel 5.10. Hasil analisis Kruskal Wallis pada bobot eksplan

Method	DF	H-Value	P-Value
Not adjusted for ties	4	10.38	0.034
Adjusted for ties	4	10.78	0.029





Selain fungsinya sebagai penyusun protein dan peran utamanya dalam inisiasi terjemahan mRNA, Metionin secara tidak langsung mengatur proses seluler sebagai prekursor S-adenosylmethionine (SAM) (Amir *et al.*, 2002). Sebagai donor utama kelompok metil, metionin mengatur proses seluler penting, seperti pembelahan sel, sintesis dinding sel, sintesis klorofil, dan sintesis membran melalui SAM (Roje, 2006). Selanjutnya, SAM adalah sumber poliamina, khususnya spermidin dan spermine, yang memainkan peran penting

Menurut Doods and Lorin (1985) beberapa asam amino yang paling sering memberikan hasil yang baik adalah L-aspartat, L-asparagin, asam L-glutamat, L-glutamin dan L-arginin. L-metionin yang ditambahkan kedalam medium dapat meningkatkan biosintesis etilen dan memperlihatkan pengaruh merangsang pada xylogenesis. Xylogenesis merupakan proses pembentukan kayu pada batang sehingga dapat mempengaruhi bobot eksplan sehingga dalam penelitian ini konsentrasi 100 ppm menghasilkan bobot yang paling optimal.

Respon perlakuan berbagai variasi konsentrasi metionin terhadap waktu tumbuh tunas eksplan JC dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.11. Waktu tumbuh tunas dengan perlakuan metionin

Perlakuan	Jumlah Hari
0 ppm	48.2
25 ppm	41.9
75 ppm	42.8
100 ppm	53.3

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa penggunaan konsentrasi metionin 25 ppm menghasilkan waktu tumbuh tunas tercepat (41.9 hari) jika dibandingkan dengan konsentrasi 100 ppm yang menghasilkan waktu tumbuh tunas paling lama (53.3 hari). Perbedaan waktu tumbuh tunas secara lebih jelas dapat dilihat pada gambar 5.8



Terlihat dari perbandingan antara gambar 5.9 dan gambar 5.10 bahwa konsentrasi metionin 25 ppm lebih optimal karena dapat menghasilkan tunas aksilar yang lebih tinggi dan memiliki banyak daun dalam waktu yang lebih singkat. Hal tersebut karena asam amino metionin adalah prekursor etilen dan ACC (1-amino cyclopropane- 1-carboxylic acid) yang berfungsi sebagai perantara dalam konversi metionin menjadi etilen. Semakin tinggi konsentrasi metionin yang diberikan, semakin besar pula etilen yang diproduksi oleh tanaman sehingga dapat menghambat pertumbuhan tunas eksplan. Menurut Taiz dan Zeiger (2002), secara umum daerah meristematik dan daerah nodal adalah yang paling aktif dalam biosintesis etilen.

Dari 100 eksplan yang digunakan dalam penelitian terdapat beberapa eksplan yang mati karena *browning* maupun kontaminasi jamur. Kondisi tersebut dapat dilihat pada tabel 5.12

Tabel 5.12. Kondisi eksplan selama pengamatan

Kondisi eksplan	Jumlah
Mati kontaminasi jamur	1
Mati <i>browning</i>	6
Hidup	93

Selama 12 minggu perlakuan, terdapat 1 eksplan yang mati karena terkontaminasi jamur dan 6 eksplan yang mati karena *browning*. Kontaminasi jamur ditandai dengan munculnya benang-benang halus berwarna putih kelabu yang merupakan miselium fungi. Berdasarkan ciri-ciri yang ditunjukkan, maka jenis jamur yang menyerang adalah jenis *Mucor* dan *Rhizopus*. Menurut Susilowati *et al.*, (2001), hampir 80% dari kultur *in vitro* yang diamati terserang kedua cendawan ini. Ciri morfologi yang ditunjukkan adalah hifa seperti benang berwarna putih hingga kelabu hitam, bagian tertentu tampak sporangium dan sporangiospora berupa titik hitam seperti jarum pentul.

Gambar 5.11. Eksplan JC yang terkontaminasi jamur jenis *Mucor* dan *Rhizopus*

Fungi dapat menginfeksi jaringan secara sistemik sehingga lama kelamaan dapat menyebabkan jaringan eksplan akan mati. Kontaminasi tersebut diakibatkan oleh faktor luar yang diduga berasal dari proses pengkulturan dan peralatan tanam yang digunakan pada saat kegiatan penanaman kurang steril.

Kegiatan sterilisasi merupakan upaya yang dilakukan dalam rangka mencegah dan menghindari kontaminasi. Sterilisasi merupakan hal mutlak yang harus dilakukan dan sangat menentukan keberhasilan dalam perbanyakan kultur *in vitro* (Shofiyani, 2015).

Kontaminasi adalah gangguan yang sangat umum dalam kegiatan kultur jaringan dan merupakan hal yang wajar sebagai konsekuensi penggunaan media yang diperkaya (Santoso dan Nursandi, 2003). Semakin diperkaya suatu media maka tingkat kontaminasinya juga semakin besar, demikian pula sebaliknya. Menurut Rappe and Giovannoni (2003) kontaminan dapat tumbuh cepat atau lambat berkaitan dengan dormansi. Kontaminan akan berkembang cepat secara kompetitif pada lingkungan kultur yang mempunyai ketersediaan nutrisi tinggi, dan akan berkembang lambat menggunakan strategi anabiosis selama mengalami dormansi.

Eksplan yang mati *browning* disebabkan karena sebagian besar jaringan tanaman tersentuh pinset atau cawan petri yang masih panas pada saat pengkulturan. Suhu yang terlalu tinggi dapat menghambat kerja enzim sebagai katalisator didalam sel, karena enzim akan rusak jika terkena panas. Akibatnya jaringan yang terkena panas lama kelamaan akan menguning. Selain itu, kematian eksplan juga dapat disebabkan karena adanya senyawa sterilan yang bersifat fitotoksik sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan dan perubahan kimia hormon yang bersifat *irreversible* dan meracuni jaringan tanaman sehingga tanaman menjadi layu dan mati.

## BAB VI

### PENUTUP

#### A. Simpulan

1. Berdasarkan analisis statistik, perlakuan konsentrasi metionin 0 ppm, 25 ppm, 75 ppm dan 100 ppm menunjukkan pengaruh berbeda nyata ( $P\text{-value} < \alpha$ ) pada tinggi eksplan dengan nilai  $p\text{-value}$  0.00 dan bobot eksplan dengan nilai  $p\text{-value}$  0.034. Serta memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata ( $P\text{-value} > \alpha$ ) pada jumlah daun dengan nilai  $p\text{-value}$  0.111, jumlah akar dengan nilai  $p\text{-value}$  0.319 dan jumlah tunas dengan nilai  $p\text{-value}$  0.799.
2. Dalam penelitian ini konsentrasi 100 ppm menghasilkan bobot yang paling optimal (0.0231 mg) karena metionin dapat menyebabkan xylogenesis pada eksplan, sedangkan konsentrasi metionin 75 ppm merupakan konsentrasi yang sesuai dan menghasilkan respon pertumbuhan paling optimal pada tinggi eksplan (0.314 cm), jumlah daun (3.26) dan jumlah tunas (0.492) karena metionin berperan sebagai anggota kelompok metil dan pengatur proses seluler penting dalam tanaman, namun jika terlalu banyak konsentrasi metionin yang diberikan akan mengakibatkan pertumbuhan vegetatif tidak optimal.

#### B. Saran

Morfogenesis JC pada beberapa media perlakuan metionin secara *in vitro* diharapkan dapat membantu meningkatkan produktivitas tanaman. Perlu diadakan penelitian lanjutan mengenai pengaruh metionin terhadap jenis







## DAFTAR PUSTAKA

- Abu Fida' bin Umar bin Katsir al-Dimasyqi. 2006. *Tafsir Ibnu Katsir Juz 27, penerjemah Abdul Ghoffar*. Pustaka Imam Syafi'ie. Bogor.
- Al Qarni, A. 2007. *At-Tafsir Al Muyassar*. Qisthi Press. Jakarta.
- Amir, R., Hacham Y. & Galili G. 2002. Cystathionine  $\gamma$ -synthase and threonine synthase operate in concert to regulate carbon flow towards methionine in plants. *Trends Plant Sci.* 7: 153-156.
- Amir, Rachel. 2008. Towards Improving Methionine Content in Plants for Enhanced Nutritional Quality. *Functional Plant Science and Biotechnology*. 2 (1): 36-46.
- Anderson, J.W & J. Beardall. 1991. *Molecular Activities of Plant Cell An Introduction to Plant Biochemistry*. Blackwell Scientific Publication. Oxford.
- Andrini, Anis. 2013. Studi Poliembrioni, Viabilitas Benih dan Identifikasi Genetik Semaian Jeruk Japansche Citroen (*Citrus Limonia* Osbeck.) Menggunakan SSR. *Tesis*. Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Brady N.C & Weil R. 2002. *The Nature and Properties of Soils 10th ed.* Macmillan. New york.
- Campbell, N.A. 2004. *Biologi edisi V jilid 2*. Erlangga. Jakarta.
- Carimi F. 2002. *Somatic Embryogenesis in Citrus for Sanitation and In vitro Conservation*. Options Mediterraneennes,.
- Debergh, P.C. 1982. Physical properties of culture media. *Plant Tissue Culture*. 135-136.
- Dhita, Windi. 2011. Evaluasi Ketahanan Planlet Mutan Jeruk terhadap Penyakit Busuk Pangkal Batang Jeruk. *Skripsi*. Fakultas Pertanian IPB. Bogor.
- Dodds, J.H., & L.W. Robert. 1983. *Experiment in Plants Tissue Culture*. Cambridge University Press. London.
- Dodds, J.H., & Lorin W. Roberts. 1985. *Experiment in Plants Tissue Culture 2<sup>nd</sup> edition*. Cambridge University Press. London. Diterjemahkan oleh Dr.Ir.H. Zulkarnain, M.Hort.SC. Fakultas Pertanian, Universitas Jambi.

- Dwiastuti M., Wiratno A., & Sumardi. 2007. Respons Ketahanan Varietas Batang Bawah Jeruk Introduksi Terhadap Penyakit Busuk Pangkal Batang dan Akar *Phytophthora sp.* di Lahan Pasang Surut. *J. Hort.* 3 (2): 59-65.
- Elfianis, Rita. 2015. *Tahap-tahap yang dilakukan dalam kultur jaringan tanaman*. <http://jokowarino.id/tahap-tahap-yang-dilakukan-dalam-kultur-jaringan-tanaman/> (Diakses pada 5 Oktober 2017).
- Fox, R.L. & G.J. Blair. 1986. *Plant Response to Sulphur Tropical Soils*. p. 405-434.
- Gamborg, L.O. & J.P. Shyluk. 1981. *Nutrition, Media and Characteristic of Plant Cell and Tissue Culture*. Academic Press. New York.
- Gardner F.P, Pearce R.B, & Mitchell R.L. 1991. *Physiology of Crop Plants*. Diterjemahkan oleh H.Susilo. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- George, E.F & P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture, Handbook and Directory of Comercial Laboratoryes*. Easter Press. England.
- Gunawan. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB. Bogor.
- Gunawan, L.N. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. PAN ITB. Bogor.
- Harada & Murai. 1996. Clonal Propagation by Tissue Culture. *Exegetics*, Ltd. p.1-72.
- ISTA. 2000. International Rules for Seed Testing. *Seed Science and Technology*, 13 (2): 299 – 355.
- Karyanti, Purwito A, & Husni A. 2012. *Pengaruh Induksi Mutasi Sinar Gamma pada Regenerasi Kalus Embriogenik Keprok Garut (Citrus reticulata L.)*. Prosiding Simposium dan Seminar Bersama PERAGI-PERHORTI-PERIPI-HIGI Mendukung Kedaulatan Pangan dan Energi yang Berkelanjutan. Jakarta.
- Katuuk, J.R.P. 1989. *Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman*. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan. Jakarta.
- Kementrian Pertanian. 2016. *Out Look Komoditas Pertanian Subsektor Hortikultura*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Jakarta.



- Purbiati, T., A. Supriyanto, & Yati, 2002. Kompatibilitas Batang Atas dan Batang Bawah pada Penyambungan Tunas Pucuk (PTP) Jeruk (*Citrus sp.*) Secara In Vitro. *Lolit Jehortik (Jeruk dan Hortikultura Subtropik)*. Batu.
- Putri L. 2002. Karakteristik Fisiologi Karakter Jeruk Besar Cikoneng dan Nambangan pada beberapa batang bawah. *tesis*. IPB. Bogor.
- Rahayuni, T. & Hadijah S. 1996. Studi Pengaruh Berbagai Jenis Batang Bawah Terhadap Keberhasilan Okulasi Tanaman Jeruk. *Laporan Akhir Penelitian*. Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Rappe, M.S. & Giovannoni S.J. 2003. The Uncultured Microbial Majority. *Annu. Rev. Microbiol.* Department of Microbiology, Oregon State University. 57: 369–94.
- Ravanel S., Gakière B., Job D., & Douce R. 1998. The specific features of methionine biosynthesis and metabolism in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95: 7805–7812.
- Reinert, J. & Bajaj, Y.P.S. 1989. *Applied and Fundamental Ascept of Plant Cell Tissue, and Organ Culture*. Narosa Publishing House. New Delhi.
- Roje S. 2006. S-Adenosyl-L-methionine: Beyond the Universal Methyl Group Donor. *Phytochemistry*. 67: 1686-1698
- Rumondor, Marhaenus J., Jeany Mandang, & Wiske Rotinsulu. 2013. Peningkatan Sulforafan Brokoli (*Brassica oleraceae* L. varitalica) dengan Modifikasi Media pada Kultur Jaringan. *Jurnal MIPA unsrat online*. 2 (1): 60-65.
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid I Edisi IV*. ITB. Bandung.
- Santoso, U. & F. Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Schenk, R.U. & A.C. Hildebrandt. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Canadian Journal of Botany*. 50: 199-204.
- Schmidt. L. 2000. *Pedoman Penanganan Benih Hutan Tropis dan Sub Tropis*. Direktorat Jendral Rehabilitasi Lahan dan Perhutanan Sosial. Departemen Kehutanan. Jakarta.

- Schwann. 1839. *Mikropische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der struktur un dem Wachstume der Tiere und Pflanzen*. Leipzig. W. Englemann, Oswalds klassiker der exakten Wissenschaften.
- Semendaya & Fauzan H. 2014. *Kultur Jaringan Stroberi (Fragaria sp.) di Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika Batu Jawa Timur*. Teknologi Industri Benih, IPB. Bogor.
- Setiono, Supriyanto A. 2005. *Ekstraksi dan Penanganan Benih Batang Bawah Jeruk*. Lolit Jeruk Balitjestro. Batu.
- Shofiyani, Anis & Neni Damajanti. 2015. Pengembangan Metode Sterilisasi pada Berbagai Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus Kencur (*Kaemferia Galangal* L). *Agritech*. 1 (17): 55 – 64
- Sridianti, 2013. *Pengertian dan Struktur Asam Amino*. <http://www.sridianti.com/> (Diakses pada 5 oktober 2017).
- Starrantino, A. & A. Caruso. 1983. Micropropagation of some Citrus Rootstocks. *International Society of Citrus Nurserymen*. 231-238.
- Sugiyarto, M. 1994. *Deskripsi Beberapa Varietas Batang Bawah dan Varietas Jeruk Komersial*. Balit. Hort. Solok.
- Susanto, S. 2003. Pertumbuhan dan Pembuahan Jeruk Besar Cikoneng pada Beberapa Jenis Batang Bawah. *Ilmu Pertanian*. 10 (1): 57-63.
- Susilowati, A. & S. Listyawati. 2001. Keanekaragaman jenis Mikroorganisme sumber kontaminasi kultur In Vitro di Lab Biologi laboratorium MIPA Pusat UNS. *Biodiversitas*. 2 (1): 110-114.
- Swingle, W.T. & Reece, P.C. 1967. The botany of citrus and its wild relatives. *The Citrus Industry*. University of California Press. USA. 1: 389–390.
- Taiz, L. & E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology 3rd Edition*. Sinauer Associates. Sunderland. 116-119.
- Tola, F.H. & K. Dahlan. 2007. Pengaruh Penggunaan Dosis Pupuk Bokashi Kotoran Sapi terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Jagung. *Jurnal Agrisistem*. 1(3): 30-43
- Torres K.C. 1989. *Tissue culture techniques for horticultural crops*. Chapman and Hall. New York, London.
- Triatminingsih, R. & Karsinah. 2004. Perbanyakan Bibit Jeruk Citromelo dan JC secara In vitro. *Jurn. Hort*. 14 (4) :238-245

